(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
30 de septiembre de 2021 (30.09.2021)

WIPO | PCT

(10) Número de publicación internacional
WO 2021/190675 A1

(51) Clasificación internacional de patentes:
*A01N 63/23* (2020.01) *A01N 25/12* (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/CO2020/050001

(22) Fecha de presentación internacional:
19 de agosto de 2020 (19.08.2020)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(72) Inventor; y
(71) Solicitante: **GARCIA NIETO, David** [CO/CO]; Cra 59 9455, Barranquilla, 08001 (CO).

(74) Mandatario: **GONZALEZ HERNANDEZ, Hugo Daniel**; CRA 58 96-187, Barranquilla, 08001 (CO).

(81) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Declaraciónes según la Regla 4.17:**
— *sobre la identidad del inventor (Regla 4.17(i))*
— *sobre el derecho del solicitante para solicitar y que le sea concedida una patente (Regla 4.17(ii))*

**Publicada:**
— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*
— *con reivindicaciones modificadas y declaración (Art. 19(1))*
— *a pedido del solicitante, antes de la expiración del plazo a que se refiere en el Artículo 21.2)a)*
— *en blanco y negro; la solicitud internacional se presentó en colores o en escala de grises y puede descargarse de PATENTSCOPE.*

(54) **Title:** BIOINSECTICIDE BASED ON BACILLUS THURINGIENCIS VAR ISRAELENSIS IN A MATRIX OF DEPLETED *PLEUROTUS SPP* MUSHROOM MYCELIUM AND METHOD FOR OBTAINING SAME.

(54) **Título:** BIOINSECTICIDA CON BASE EN BACILLUS THURINGIENCIS VAR ISRAELENSIS EN UNA MATRIZ DE MICELIO AGOTADO DE HONGO *PLEUROTUS SPP.* Y SU MÉTODO DE OBTENCIÓN

(57) **Abstract:** The present invention discloses a bioinsecticide-larvicide based on a Bacillus thuringiencis var israelensis and the method for obtaining it, for controlling larvae or mosquito vectors. This bioinsecticide-larvicide is characterised in that it comprises: • Depleted Pleurotus ostreatus mycelium • corn husk • active ingredient: *Bacillus thuringiensis var.israeliensis* spores. This bioinsecticide-larvicide consists of three main methods or processes: a) Method for treating the raw material (corn husk or Pleurotus ostreatus mushroom mycelium); b) Method for preparing the broth (liquid medium-tryptone for mixing with the raw material); and c) Process for implementing the mixture of the broth and the raw material.

(57) **Resumen:** La presente invención revela un bioinsecticida-larvicida con base en un Bacillus thuringiencis var israelensis y su método de obtención, para el control de larvas o mosquitos vectores. Este bioinsecticida-larvicida está caracterizado porque comprende: • Micelio agotado de orellana • tusa de maíz • ingrediente activo esporas *Bacillus thuringiensis var.israeliensis* Este bioinsecticida-larvicida se compone de tres procedimientos o procesos principales: a) Método de tratamiento de la materia prima (tusa o micelio del hongo Orellana Pleurotus spp) b) Procedimiento para la elaboración del caldo (Medio líquido-triptona para mezclar con la materia prima) c) Proceso para la implementación de mezcla entre el caldo con la materia prima

WO 2021/190675 A1

# MEMORIA DESCRIPTIVA DE LA SOLICITUD DE PATENTE

## 1. Título de la invención

BIOINSECTICIDA CON BASE EN BACILLUS THURINGIENCIS VAR ISRAELENSIS EN UNA MATRIZ DE MICELIO AGOTADO DE HONGO *PLEUROTUS SPP.* Y SU MÉTODO DE OBTENCIÓN

## 2. Campo de aplicación

Se identificaron los grupos generales en la clasificación:

Dentro del primer nivel, la presente tecnología pertenece a la clase internacional general A qué se refiere a NECESIDADES CORRIENTES DE LA VIDA

En el segundo nivel, la presente tecnología pertenece a la subclase A01 que se refiere a AGRICULTURA; SILVICULTURA; CRIA; CAZA; CAPTURA; PESCA

Para el tercer nivel se identificó la subclase A01N que se refiere a CONSERVACION DE CUERPOS HUMANOS O ANIMALES O DE VEGETALES O DE PARTES DE ELLOS (conservación de alimentos o productos alimenticios A23); BIOCIDAS, p. ej. EN TANTO QUE SEAN DESINFECTANTES, PESTICIDAS O HERBICIDAS (preparaciones de uso médico, dental o para el aseo que eliminan o previenen el crecimiento o la proliferación de organismos no deseados A61K); PRODUCTOS QUE ATRAEN O REPELEN A LOS ANIMALES; REGULADORES DEL CRECIMIENTO DE LOS VEGETALES (mezclas de pesticidas con fertilizantes C05G)

Dentro del cuarto nivel se identificó la subclase A01N63/00 que se refiere a Biocidas, productos que repelen o atraen a los animales perjudiciales, o reguladores del crecimiento de los vegetales, que contienen microorganismos, virus, hongos microscópicos, animales, p. ej. nematodos, o sustancias producidas por, u obtenidas a partir de microorganismos, virus, hongos microscópicos o animales, p. ej. encimas o productos de fermentación (que contienen compuestos de constitución determinada A01N 27/00-A01N 59/00) [2006.01]

Dentro del quinto nivel se encontró la subclase A01N63/02 que se refiere a Sustancias producidas por, u obtenidas a partir de microorganismos o animales [2006.01]

Otras clasificaciones dentro de la misma raíz.

A01N25/12

Biocidas, productos que repelen o atraen a los animales perjudiciales, o reguladores del crecimiento de los vegetales, caracterizados por su forma, ingredientes inactivos o modos de aplicación (papel fungicida, bactericida, insecticida, desinfectante o antiséptico D21H); Sustancias que reducen los efectos nocivos de los ingredientes activos en organismos distintos a los perjudiciales [2006.01]

Polvos o granulados.

1. Descripción breve

La presente invención hace referencia a un bioinsecticida-larvicida con base en un *Bacillus thuringiensis var israeliensis* en una matriz de micelio agotado de hongo *Pleurotus spp.* y su método de obtención, para el control de larvas de mosquitos vectores. Se puede añadir tusa de maíz en la mezcla, pero la ventaja del micelio es que no hay riesgo de contaminación por otros hongos micromicetos invasores, además mantiene una actividad acuosa Aw mínima, dando una consistencia que facilita la molienda y una vida útil superior a 2 años.

Este bioinsecticida-larvicida se compone de tres procedimientos o procesos principales:

a) Método de tratamiento de la materia prima (micelio agotado del hongo Orellana Pleurotus spp)

b) Procedimiento para la elaboración del caldo (Medio líquido-triptona para mezclar con la materia prima)

c) Procedimiento para la selección de las cepas de trabajo y su posterior criopreservación en crioperlas

d) Proceso para la implementación de mezcla entre el caldo con la materia prima (gránulos de micelio agotado de hongo Pleurotus spp + tusa de maíz dado el caso)

Dichos procesos en resumen utilizan residuos agrícolas como el sustrato agotado de micelio del hongo Orellana Pleurotus spp. Este es triturado a través del tamiz con poro de 3/8" 9,53 mm Ø 0,38 pulgadas con la ayuda del molino de martillos.

También la tusa del maíz como materia prima, los cuales a través de un tratamiento previo permiten obtener pellets que conforman el granulado dónde vamos a inocular las esporas que se encuentran en el caldo.

Con dichos procesos y materias primas permiten obtener un producto que es un matriz soporte estructural para las esporas de Bacillus thuringiensis var. israeliensis para su aplicación directa en el agua, para el control de larvas o mosquitos vectores.

## 2. Estado de la técnica

En la agricultura moderna se hace necesario emplear productos insecticidas o larvicidas que no tengan efectos contra la salud humana ni contra los ecosistemas agrícolas (ejemplo, los insectos beneficiosos), el medio ambiente, en su sentido más amplio y las especies que no son el objetivo, así como paisajes y comunidades. En este contexto es posible encontrar ejemplos donde los insecticidas han tenido un impacto desastroso en todas aquellas variables y otros ejemplos donde los peligros que representaban han sido mitigados, en general las consecuencias ecológicas del uso de insecticidas, particularmente químicos, causan gran preocupación.

Los insecticidas se encuentran entre las herramientas agrícolas que están más asociadas con el daño ambiental, debido a que su objetivo específico es matar plagas de insectos y por consecuencia puede que tenga un impacto letal o subletal en organismos que no son su objetivo (por ejemplo, recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas) y reducir o contaminar productos alimenticios.

Los bioinsecticidas hacen uso de agentes patógenos naturales para combatir los insectos de la manera más efectiva y selectiva debido a que solamente matan a los insectos a los que están destinados.

Se han evidenciado varias soluciones las cuales a través de sus composiciones permiten acabar con las larvas, pero que no funcionan en todos los climas debido a sus gránulos congelados, otros productos involucran soluciones pastosas, así mismo, otras formulaciones de bioinsecticida son secas y han sido una forma alternativa para resolver los problemas de larvas ya que son fáciles de almacenar, empacar y llevar a áreas infestadas.

A continuación, se hace una relación de las invenciones encontradas que apuntan a resolver el problema técnico planteado, así como sus principales diferencias y limitaciones con el concepto inventivo propuesto en la presente solicitud:

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | 03078437 (Col) |
| Estado | Negada |
| Título | Bioinsecticida basado en una cepa de bacillus thuringiensis (berliner), la formulación y los procedimientos de produccion |

Descripción

1.- Un agente de control biológico CARACTERIZADO porque comprende una cepa nativa de Bacillus thuringiensis depositada bajo número de registro ATCC 202194, cepa que se caracterizó empleando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y la cual es altamente tóxica contra el insecto del orden Lepidoptera cuyo nombre científico es Spodoptera frugiperda.2.- Un agente de control biológico de conformidad con la reivindicación 1 en donde dicha cepa produce una proteína de 130 a 135 kilodaltons (KDa).3.- Un agente de control biológico de conformidad con la Reivindicación 2, que emplea como ingrediente activo la proteína contenida en un cristal producido por dicha cepa.4.- Un agente de control biológico de conformidad con las reivindicaciones 1 a 3, que emplea como ingrediente activo la espora que produce dicha cepa.5.- El agente de control biológico de acuerdo con las Reivindicaciones 1 a 4, que se caracteriza por poseer una concentración letal media (CL 50) para el insecto Spodoptera frugiperda entre 80 y 160 nanogramos (ng) de proteína tóxica por centímetro cuadrado de dieta artificial en condiciones de laboratorio.6.- Un procedimiento para la producción industrial de un agente de control biológico de que tratan las Reivindicaciones 1 a 5, que contiene medios de cultivo con combinaciones de componentes para alcanzar una concentración final entre 12 - 15 g/l de ingrediente activo, con una actividad insecticida contra Spodoptera frugiperda entre 45 - 87.5% de mortalidad frente a un estándar de dosis letal 50, el cual es una fermentación que comprende las etapas de:- preparar un inóculo que corresponde al 10% del volumen del inóculo - activar el inóculo a partir de una cepa pura de Bacillus thuringiensis esporulada y conservada en un medio sólido - mantener el inóculo por un tiempo no mayor a 16 horas, - separar el medio de cultivo obtenido por filtración, - secar la torta obtenida del ingrediente activo y someterla a una etapa de reducción de tamaño en un molino, - agregar disolventes y/o coadyuvantes de formulación.

Diferencias

-Especial para larvas lepidopteras (Mariposas)
-Ataca al Insecto Spodoptera frugiperda (cogollero del maíz)
-Protege cultivos de maiz, algodón, sorgo, soya y arroz
-Emplea ingredientes en la elaboración del bioinsecticida (suelo, caldo Luria Bertani, acetato de sodio)
-La mezcla se incuba por 4 horas
-Se calienta a 60 grados por 3 minutos
-La mezcla tratada con calor sobre placas de agar T3 (triptona, triposa, extrato de levadura, MgCi, Na2.HPO4)
-Todo finalmente se incuba durante 16 horas a 30 grados
-Se hace un repique de colonias y se vuelve a incubar a 30 grados por 24 horas
-La cepa está en el banco de referencia de la American Type Culture Colletion
-La cepa es caracterizada en el instituto de biotecnología de la UNAL
-El organismo se siembra en el 10% del volumen de fermentación y crece hasta una densidad de 0.65 u.a. leía a 600nm
-Informa las materias primas para el cultivo y la inoculación (fuentes de carbono y fuentes de nitrógeno)
-El tiempo de incubación no supera las 16 horas
-Para fermentar, se emplea un antiespumante
-El proceso de secado se hace a una temperatura no mayor de 30 grados
-El producto resultante es un suspensión acuosa

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | 02006152 (Col) |
| Estado | Negada |
| Título | Formulaciones de un bioinsecticida con base en un bacillus thuringiencis var israelensis y su respectivo proceso de fabricación |

Descripción

1.- Una formulación bioinsecticida con base en entomotoxinas obtenidas del Bacillus thuringiencis var israelensis con actividad tóxica contra insectos dípteros caracterizada por ser suministrada por un polvo seco con una actividad tóxica que está entre 500 a 1500 ITU (Unidades de Toxicidad lnternacionales)/mg de polvo seco, teniendo de otro lado aditivos tales como secadores químicos, dispersantes, agentes aglutinantes/humectantesy protectores contra la luz solar, lo que hace fácil la permanencia del componente activo en el área de aplicación durante por lo menos 10 días, manteniendo estable su actividad tóxica durante por lo menos 6 meses, sin causar daño al ecosistema.2.- La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la entomotoxina Bti se presenta bajo una forma impura como biomasa tóxica o esporas Bti.3.- La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la entomotoxina Bti se presenta bajo una forma aislada como biomasa tóxica o esporas Bti..4.- La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde los secadores químicos han sido seleccionados entre tierras diatomáceas, calcita, arcilla, sílice, caolín, diatomita, bentonita, dolomita, fosfato de calcio, leucita, montmorillonita, y sílice calcinada.5.- La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 4 en donde los secadores químicos están entre 0,1 a 10% p/p de diatomita, 0,1 a 10% de p/p de bentonita, 0,1 a 10% de p/p de fosfato de calcio y 0,1 a 10% p/p de sílice calcinado

Diferencias

-El producto es un polvo seco
-En su composición involucra secadores químicos (Tierras diatomáceas, calcita, arcilla, etc.)
-Involucra dispersantes, agentes aglutinantes / humectantes y protectores contra la luz solar
-Está compuesto por agentes diluyentes, lubricantes
-Involucra un proceso de deshidratación de mezcla
-El aislamiento y crecimiento de la cepa se hace a través de un proceso de fermentación
-Involucra una técnica de centrifugación

5

5

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US4563344A |
| Estado | Expirada |
| Fecha Publicación | 07/01/1986 |
| Título | Controlled release agglomerated carrier<br><br>Vehículo aglomerado de liberación controlada |

Descripción

Un portador aglomerado de liberación controlada para pesticidas y similares, compuesto por porciones preseleccionadas de la médula, la paja fina y gruesa y porciones de anillos leñosos de una tusa de maíz que, cuando se combinan en proporciones variables, definen una tasa de liberación general para el portador y / o actúan como un cebo para las especies objetivo

Diferencias

-En el vehículo se puede implementar el pesticida clorpirifos, insecticida, un herbicida
-Tiene un componente de liberación más rápida y un componente de liberación más lenta
-Implementa como materia prima médula molida (ground pith) separada
-Implementa paja de mazorca molida
-Los componentes de liberación más rápida y más lenta se impregnan con un pesticida capaz de aglutinante con materia orgánica antes de ser aglomerado.
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-Falta información acerca del procedimiento de tamiz a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

"PAGE INTENTIONALLY LEFT BLANK"

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US2019059388A |
| Estado | Asignada |
| Fecha Publicación | 12/07/2019 |
| Título | Carbon nanosphere-coated bacteria as mosquito larvicides<br><br>Bacterias recubiertas de nanoesferas de carbono como larvicidas de mosquito |

Descripción

Se proporcionan composiciones y métodos de uso de los mismos para administrar un insecticida a larvas de insectos transmitidas por agua. Mientras que las células individuales de las bacterias insecticidas, como Bacillus thuringiensis israelensis (Bti), son efectivas para matar las larvas de insectos cuando se ingieren, su uso en ambientes acuosos está restringido por el tiempo en que las células bacterianas permanecen suspendidas en el agua y, por lo tanto, están disponibles para la ingestión por las larvas. Para aumentar el tiempo que las bacterias insecticidas permanecen en suspensión, ahora se ha encontrado ventajoso mezclar suspensiones bacterianas con nanopartículas que comprenden carbono que se unen a la superficie externa de las células.

Diferencias

-Involucra nanopartículas de carbono que tienen una bacteria larvicida
-Nanopartículas esféricas
Tienen tamaño de sección transversal de aproximadamente 50 nm a aproximadamente 1 µm
-Nanopartículas de carbono se mezcla con un medio líquido
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No aclara como se almacena el producto en un tanque presurizado
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US2004185079A |
| Estado | Abandonada |
| Fecha Publicación | 23/09/2004 |
| Título | Floating sustained release pesticide granules<br><br>Gránulos flotantes de pesticidas de liberación sostenida |

Descripción

Un gránulo de pesticida de liberación sostenida flotante adaptado para la aplicación de difusión para controlar una población de insectos en un ambiente acuático, que comprende una cantidad efectiva de un ingrediente activo suspendido en un agente protector solar soluble en agua y un agente de flotación, dicho ingrediente activo, agente protector solar y flotación agente incrustado en una matriz fibrosa insoluble de modo que cuando dicho gránulo está en contacto con el agua, dicho agente de filtro solar soluble en agua se disuelve con el tiempo, liberando así el ingrediente activo en el agua de una manera de liberación sostenida. La invención además se refiere a un método para la producción de dicho gránulo y a un método para controlar una población de insectos al usar dicho gránulo.

Diferencias

- Ingrediente activo está entre 5-60% en peso
-Tiene un pigmento protector solar natural que comprende humato
-El agente de flotación se deriva de al menos uno del grupo que consiste en: perlitas, vermiculitas, polvo de plumas, cáscaras de maní y subproductos de celulosa
-Los agentes son tratados con un material hidrófobo
-El pesticida tiene un tensioactivo
-Involucra un material de relleno inerte (Carbonato de calcio o un silicato)
-Tiene un estimulante de alimentación de larvas (harina de pescado, harina de soja, harina de semilla de algodón y harina o extractos de levadura)
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-Falta información acerca del procedimiento de tamiz a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US5283060A |
| Estado | Expirada |
| Fecha Publicación | 01/02/1994 |
| Título | Bacillus-containing pesticide granules<br><br>Gránulos de plaguicidas que contienen bacilo |

Descripción

Los gránulos de pesticidas, especialmente para administrar un pesticida biológico en aplicaciones acuáticas, tienen un núcleo de cera y el pesticida está asegurado al núcleo en una matriz dispersable en agua o soluble en agua. Más específicamente, la composición de pesticida es fluida y flotable en agua, siendo el pesticida biológico del género Bacillus y la matriz de recubrimiento proteica.

Diferencias

-Tiene una superficie de cera de parafina normalmente sólida
-Tiene una matriz de recubrimiento de un material adhesivo proteináceo soluble en agua asegurado a dicha superficie de cera de parafina
-La cera de parafina tiene un punto de fusión de al menos 40ºC
-El material adhesivo formador de película es proteína animal hidrolizada
-La matriz dispersable en agua que encapsula dicho pesticida está compuesta de un residuo de fermentación que comprende carbohidrato y al menos 50% en peso de residuo proteico
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-Falta información acerca del procedimiento de tamiz a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No aclara como se almacena el producto en un tanque presurizado
-No explica como aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US5698210A |
| Estado | Expirada |
| Fecha Publicación | 16/12/1997 |
| Título | Controlled delivery compositions and processes for treating organisms in a column of water or on land<br><br>Composiciones y procesos de entrega controlados para tratar organismos en una columna de agua o en tierra |

Descripción

Se describen composiciones de liberación controlada de materia que comprenden complejos para tratar una población de uno o más organismos acuáticos en una columna de agua. Los complejos comprenden al menos un sistema en el que el sistema comprende al menos un agente bioactivo como un componente seleccionado para tratar una población de organismos acuáticos, al menos un componente portador y al menos un componente de recubrimiento para regular la velocidad de liberación controlada y el perfil de liberación de El agente bioactivo en el agua o al menos un agente bioactivo y un componente de función conjunta que puede servir como soporte y recubrimiento para regular la velocidad de liberación controlada y el perfil de liberación del agente bioactivo en agua, con o sin componentes aglutinantes opcionales y / o materiales de formulación adicionales. Los componentes se seleccionan para hundirse o flotar de modo que los complejos permeen y / o permanezcan en cualquier segmento plano o volumétrico de una columna de agua durante un período de tiempo que sea suficiente para tratar eficazmente una población de organismos acuáticos. También se describen métodos para tratar una columna de agua que comprende administrar las composiciones a una columna de agua o a un área seca de preinundación (pretratamiento) que se desarrollará en una columna de agua o un área de inundación. La composición y el proceso también se pueden usar para tratar organismos terrestres.

Diferencias

-Sistema controlado
-Implementa diferentes agentes bioactivos
-Los componentes de recubrimiento consiste en polímeros orgánicos solubles en agua (alcohol vinílico), (óxido de etileno) hidroxipropil metil celulosa o metil celulosa, alcoholes grasos, ácidos grasos y sus ésteres, o ésteres de ftalilo
-Los vehículos son sílices, fibras de celulosa, óxidos metálicos, arcillas, tierra infusoria, escoria finamente molida o lava, alcohol polivinílico, copolímeros de alcohol polivinílico, óxido de polietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, papel, hidrófobo, astillas de madera, alcohol cetílico, alcohol estearílico, vermiculita, corcho molido, bagazo, cáscaras de semillas, papel, materiales de carbono en partículas, almidones o almidones modificados, carragenina, algina, xantatos, agar o materiales poliméricos en polvo, y combinaciones del mismo
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial

-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No aclara como se almacena el producto en un tanque presurizado
-No explica cómo aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | EP1306008A1 |
| Estado | Retirada |
| Fecha Publicación | 02/05/2003 |
| Título | Composition for treatment against mosquito larvae and process for its preparation<br><br>Composición para tratamiento contra larvas de mosquito y proceso para su preparación. |

Descripción

La invención se refiere a composiciones insecticidas que comprenden un insecticida de Bacillus thuringiensis. La invención también se refiere a un proceso para la preparación de formulaciones de tales composiciones y al uso de composiciones insecticidas para el control de larvas de mosquito.
La composición de la invención comprende un componente insecticida derivado de la cepa Bacillus thuringiensis M-H-14, un componente portador, un componente para la protección contra la luz solar y, opcionalmente, la carga y los excipientes. El componente insecticida de Bacillus thuringiensis M-H-14 es una delta-endotoxina producida por el microorganismo cuando se está muriendo. El portador de la invención es de material vegetal como turba, tusa de maíz, grano de maíz, cepa de trigo, corcho y grano de semilla de palma.
El método para la preparación del componente insecticida comprende los pasos de fermentación de Bacillus thuringiensis MH-14 en un reactor de fermentación hasta la finalización de la esporulación, separando los componentes sólidos del reactor de fermentación por centrifugación para obtener una solución concentrada llamada crema concentrada, secado por atomización. crema concentrada para obtener un polvo humectable al diluir la crema concentrada con una solución acuosa para obtener una solución acuosa vertible.

Diferencias

-Implementa un proceso de fermentación y centrifugación
-Involucra otras materias primas vegetales como la turba, el grano de maíz, la cepa de trigo, el corcho y el grano de semilla de palma
-Obtiene un producto previo llamado crema concentrada
- Involucra un proceso de secado por aspersión a la crema concentrada para obtener un polvo humectable
-Al diluir la crema obtiene una solución acuosa vertible
-Tiene un componente para la protección contra la luz solar (humo, bentonita, caolín y polvo de coral)
-Implementa una la carga de 4% p / p de molasa de remolacha azucarera estéril.

-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No aclara como se almacena el producto en un tanque presurizado
-No explica cómo aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US2003064060A |
| Estado | Abandonada |
| Fecha Publicación | 03/04/2003 |
| Título | Mixture of bacillus thuringiensis subspecies israelensis and bacillus sphaericus for management of resistance to mosquito larvicides<br><br>Mezcla de bacillus thuringiensis subespecie israelensis y bacillus sphaericus para el manejo de la resistencia a los larvicidas de mosquitos |

Descripción

Un método para controlar las larvas de Dipteran o un método para inhibir el desarrollo de la resistencia larvicida, controlar las poblaciones resistentes y reducir los niveles de resistencia en Diptera mediante la introducción de una cantidad efectiva en larvicida de una combinación de una cepa de Bacillus thuringiensis subespecie israelensis y una cepa de Bacillus sphaericus en un ambiente que contiene larvas de Dipteran; y se describe una composición de la combinación. Preferiblemente, ambas cepas no están genéticamente modificadas.

Diferencias

-Incluye un agente tensioactivo
-Involucra un vehículo inerte (minerales inorgánicos tales como caolín, mica, yeso, fertilizantes, arena, filosilicatos, carbonatos, sulfatos o fosfatos; materiales orgánicos tales como azúcares, almidones o ciclodextrinas; o materiales botánicos como productos de madera, corcho, cáscaras de arroz, cáscaras de maní y cáscaras de nueces.)
-Tiene un conservante, un conservante, un humectante, un estimulante de alimentación, un atrayente, un

agente encapsulante, un aglutinante, un emulsionante, un tinte, un UV protector, un tampón, un agente de control
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No explica cómo aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US5560909 |
| Estado | Expirada |
| Fecha Publicación | 01/10/1996 |
| Título | Insecticidal compositions and process for preparation thereof<br><br>Composiciones insecticidas y procesos para su preparación. |

Descripción

La invención se refiere a ciertas composiciones insecticidas de insecticidas ingeribles seleccionados del grupo que consiste en virus de ADN, virus de ARN y bacterias del orden Bacillus tales como, por ejemplo, Bacillus thuringiensis var. israelensis atrapada por un polímero cargado adecuado. La invención también se refiere a un proceso para la preparación y el uso de tales composiciones insecticidas.

Diferencias

-Tiene un estabilizador de luz ultravioleta
-El insecticida biológico ingerible se mezcla con el estabilizador de luz ultravioleta y un polímero cargado en un medio acuoso
-El insecticida es un virus de ADN (polihedrosis nuclear), o un virus de ARN
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-Falta información acerca del procedimiento de tamiz a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No aclara como se almacena el producto en un tanque presurizado
-No explica cómo aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)
-No es un producto granulado
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US5912162 |
| Estado | Expirada |
| Fecha Publicación | 15/06/1999 |
| Título | Dipteran-active compound and Bacillus thuringiensis strain<br><br>Dipteran-compuesto activo y cepa de Bacillus thuringiensis |

Descripción

La invención se refiere a una nueva sustancia con actividad contra las plagas de insectos del orden Diptera. La invención se refiere además a la sustancia que actúa junto con un pesticida relacionado con Bacillus, un pesticida químico y / o un virus con propiedades pesticidas. La invención se refiere además a una (s) nueva (s) cepa (s) de Bacillus thuringiensis que produce dicha sustancia. La invención se refiere además a composiciones pesticidas que comprenden la sustancia y un vehículo pesticida, o la sustancia y un pesticida relacionado con Bacillus, un pesticida químico y / o un virus con propiedades pesticidas, así como métodos para usar las composiciones pesticidas para controlar una plaga.

Diferencias

-Es un nucleósido de uracilo con tres restos de azúcar y dos fosfatos y desplazamientos químicos
-Un método para obtener un mutante o variante de una cepa de Bacillus thuringiensis
-Implementa materiales inertes incluyen minerales inorgánicos tales como caolín, mica, yeso, fertilizantes, filosilicatos, carbonatos, sulfatos o fosfatos; materiales orgánicos tales como azúcar, almidones o ciclodextrinas; o materiales botánicos como productos de madera, corcho, cáscaras de arroz, cáscaras de maní y cáscaras de nueces.
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-Falta información acerca del procedimiento de tamiz a la materia prima (tusa)
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida
-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No aclara como se almacena el producto en un tanque
-No explica cómo aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)
-No implementa un proceso de criopreservación de las cepas

| | |
|---|---|
| Numero de Publicación | US8454983B2 (En adelante P10) |
| Estado | Activo |
| Fecha Publicación | 04/06/2013 |
| Título | Formulation and delivery of Bacillus thuringiensis subspecies israelensis and Bacillus sphaericus in combination for broadspectrum activity and management of resistance to biological mosquito larvicides<br><br>Formulación y suministro de la subespecie Bacillus thuringiensis israelensis y Bacillus sphaericus en combinación para la actividad de amplio espectro y el manejo de la resistencia a los larvicidas biológicos de mosquitos. |

Descripción

Un método para controlar las larvas de Dipteran o un método para inhibir el desarrollo de la resistencia larvicida, controlar las poblaciones resistentes y reducir los niveles de resistencia en Diptera mediante la introducción de una cantidad efectiva en larvicida de una combinación de una cepa de Bacillus thuringiensis subespecie israelensis y una cepa de Bacillus sphaericus en un ambiente que contiene larvas de Dipteran; y se describe una composición de la combinación. Preferiblemente ambas cepas no están genéticamente modificadas

Diferencias

Implementa un agente tensioactivo, un vehículo inerte, un conservante, un humectante, un estimulante de alimentación, un atrayente, un agente encapsulante, un aglutinante, un emulsionante, un tinte, un protector de luz ultravioleta, un tampón, un agente de control de deriva, un auxiliar de deposición por pulverización, un agente de flujo libre y combinaciones de los mismos

-Los ejemplos de materiales inertes incluyen minerales inorgánicos tales como caolín, mica, yeso, fertilizantes, arena, filosilicatos, carbonatos, sulfatos o fosfatos; materiales orgánicos tales como azúcares, almidones o ciclodextrinas; o materiales botánicos como productos de madera, corcho, cáscaras de arroz, cáscaras de maní y cáscaras de nueces.

-Combina una cepa de Bacillus thuringiensis subespecie israelensis y una cepa de Bacillus sphaericus
-No Implementa micelio del hongo Orellana Pleurotus spp
-No Implementa residuos orgánicos como materia prima
-No Indica como es el procesamiento de la materia prima
-No informa acerca del proceso de molienda a la materia prima (tusa)
-No establece el tamaño de los gránulos
-No indica cómo se almacena la materia prima molida
-No informa acerca de Incluir triptona-levadura para realizar el inóculo con las esporas
-No informa del tiempo de activación de la fase germinativa / Indica una fase exponencial
-No aplica un proceso de plancha térmica a una temperatura indicada y a una velocidad establecida

-No informa del proceso de análisis cuantitativo y cualitativo (el caldo se encuentra en su máximo crecimiento de las bacterias)
-No Implementa un proceso de filtrado al líquido-caldo para quitar residuos
-No presenta el proceso de nebulización con el caldo
-No explica cómo aplica el caldo a través de un proceso de spray a la materia prima (Tusa, hongo, etc.)
-No informa del proceso de secado por un tiempo y temperatura determinado

## 3. Descripción detallada

La invención hace referencia a un larvicida que utiliza como materia prima subproductos agrícolas pero su uso es exclusivamente ambiental, por si no combate una plaga que afecté a un cultivo en concreto, su funcionalidad se debe a las esporas de Bacillus thuringiensis var.israeliensis que contiene unas proteínas en forma de cristales δ-endotoxina que presentan una toxicidad específica cuando son ingeridos por las larvas filtradoras de mosquitos vectores.

Para lograr el efecto larvicida, la larva debe ingerir suficientes cristales para producir un desbalance osmótico que altere el sistema digestivo y que provoca que la larva colapse y muera. La novedad del uso de la matriz compuesta de micelio agotado de hongo orellana *Pleurotus spp,* se hizo una proyección de pruebas en banco de hidráulica básica donde se evalúo las siguientes variables arrastre, flotabilidad, precipitación vs caudal.

Se puede decir que hay 3 factores críticos que determinan la ingesta-efectividad del producto por las larvas:

1. Fotolisis: Los cristales δ-endotoxina son muy sensibles a la luz solar, pero se ha comprobado que la matriz de micelio agotado de orellana, al tratarse de un material poroso se va liberando lentamente y queda más protegido de los rayos solares.
2. Flotabilidad: La flotabilidad positiva permite que el principio activo se vaya liberando poco a poco en la parte superficial, dónde pasan la mayor parte del tiempo las larvas alimentándose. El producto tiene una residualidad de 1 mes desde su aplicación.
3. Dosificación: Es necesario aplicar 2,2 gramos por metro cuadrado ($m^2$) del espejo de agua, es importante aclarar que el producto se puede aplicar en seco y se activaría cuando se inunde. También no está de más decir que no se tiene en cuenta la profundidad por las larvas encontrarse en la mayor parte del tiempo en la parte superficial.

Los bioinsecticidas hacen uso de agentes patógenos naturales como control biológico para combatir los insectos de la manera más efectiva y selectiva debido a que solamente matan a los insectos a los que están destinados. En cambio, los insecticidas puede que tenga un impacto letal o subletal en organismos que no son su objetivo (por ejemplo, recicladores de nutrientes

del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas) y reducir o contaminar productos alimenticios.

APLICACIÓN PREFERIDA:

La presente invención revela un bioinsecticida-larvicida con base en un Bacillus thuringiencis var israelensis y su proceso de fabricación para el control de larvas o mosquitos vectores.

El proceso de fabricación se compone de tres procedimientos principales:

a) Método de tratamiento de la materia prima (micelio del hongo Orellana Pleurotus spp)

-La tusa o micelio del hongo Orellana Pleurotus spp se recibe en bultos, en el caso de la tusa está previamente limpia, es decir sin granos de maíz, seca y libre de cualquier plaga.

-Se le aplica un proceso de molienda, el cual incluye verter la materia prima en un molino de martillos iniciando un movimiento de tornillo sinfín, ejecutando un tamiz de 3/8" 1.94 cm.

-El molino proyecta las partículas hacía un silo, dónde se recolecta, cuando está lleno el silo, se transporta en una carreta con sacos de estopa.
-Posteriormente, la materia prima se vierte en la zaranda vibratoria para separar los residuos y establecer la granulometría deseada para el producto.

-Una vez realizado el tamizaje se recolecta en garrafas de 50 galones (Capacidad máxima 200 litros y 10,8 kg), estos pueden estar dispuestos o no sobre estibas. El peso neto con el producto son aproximadamente 47 kg. El molino tiene una capacidad para moler 85.2 kg/media hora por ciclo x 3 ciclos/día equivale a 1022 kg/día. Más de una tonelada.

-La tusa va a ser usada en los dos procesos siguientes, tanto para dejar el inóculo con las esporas y para ser usada como medio de soporte de la matriz estructural.

b) Procedimiento para la elaboración del caldo (Medio líquido- triptona de soya para mezclar con la materia prima)

-Además del caldo triptona de soya (TSB) también se puede utilizar el caldo Triptona Soja Extracto de Levadura (TSYEB) con resultados similares.

-Se utiliza la tusa ya previamente tratada para dejar el inóculo con las esporas durante toda la noche (equivale a 12 horas) en caldo triptona levadura (Medio liquido) a temperatura

ambiente (22°C ± 2), para tener como resultado que las esporas se activen y pasen a fase germinativa.

Descripción detallada del proceso en el que las bacterias se encuentran en fase germinativa con crecimiento vegetativo (exponencial) y están preparadas para su inoculación en la matriz (tusa de maíz):

1. Se pesan todos los componentes de la mezcla, dependiendo el tipo de caldo utilizado, en el punto 4 se expone el comportamiento que siguieron ambos medios. El motivo de utilizar 2 tipos de caldo diferentes es para tener alternativas con los proveedores, ya que los medios pueden tardar hasta 60 días en la importación. Podemos utilizar frasco Pyrex borosilicato de 500 ml o 250 ml.

Vamos a exponer el de 500 ml, este es aforado con agua destilada hasta la curva del frasco y todos los componentes que se pesaron en una balanza volumétrica con precisión (d = 0,001 gr) y un peso máximo de 250 gr:

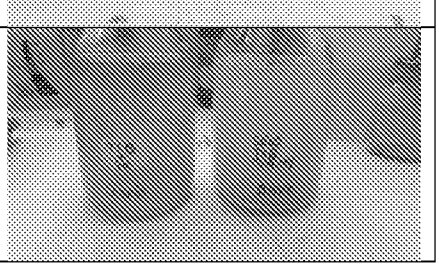
| Caldo TSB (en la imagen del flujograma aparece la información de la etiqueta) | Caldo TSB + YE (componentes separados = TSEYB) |
|---|---|
| Caldo Triptone Soya – 15 gr | Caldo Triptona Soya – 12 gr |
| Producto en tusa – 0,42 gr | Extracto de Levadura – 3 gr |
| | Gránulos micelio agotado orellana previamente inoculado con los – 0,42 gr |

2. Una vez se vierte cada uno de los ingredientes de la mezcla se afora con agua destilada.

3. Se coloca el frasco en la plancha térmica durante 15 min a 155°C y una velocidad de 7,7 rpm. Además, es necesario ubicar un magneto con una longitud equivalente a la base del frasco, dejando 1 cm a ambos lados de la pared del frasco.

4. Se procede a la lectura del espectrofotómetro utilizando unas cubetas de cuarzo, como blanco se utiliza caldo de cultivo previamente esterilizado en autoclave 15 min a 15 libras de presión a 121°C para tal fin podemos utilizar frasco pyrex borosilicato de 250 ml (tapa azul) y después se hace una lectura cada 24 horas, hasta que alcancé una absorbancia de 0,6 a una longitud de onda de 600 nm, esto queda en el espectro del visible.

En la siguiente tabla se muestra en qué tiempo llega a esa absorbancia y en qué momento se alcanzó esa absorbancia y que por lo tanto es el momento óptimo para la nebulización.

| Tiempo | Caldo (solo TSB | Caldo TSB + YE (componentes separados = TSEYB) | Imagen |
|---|---|---|---|
| 0 horas | 0,038 | 0,038 | Muestra ≈ Blanco (agua destilada) |
| 24 horas | 0,874 | 0,060 |  |
| 48 horas | 0,971 | 0,540 |  |
| 72 horas | 0,993 | 0,613 |  |

5. Se selecciona el caldo cuando se encuentra en su máximo crecimiento, ya que es el momento clave para la nebulización.

6. El contenido se vierte para realizar el proceso de nebulización del caldo con las bacterias en crecimiento exponencial Bacillus thuringiensis con tecnología spraying system con flujo/hora bajo. Este proceso se enlaza con el flujograma del proceso de la materia prima enviado anteriormente.

-El proceso indica que se coloca un frasco en una plancha térmica durante 15 min a 155°C y una velocidad de 7,7 rpm. Además, es necesario ubicar un magneto con una longitud equivalente a la base del frasco, dejando 1 cm a ambos lados de la pared del frasco.

-Se pone a crecer en un tubo de ensayo de 20ml (el motivo de utilizar un volumen pequeño es tener suficientes muestras por si hay alguna contaminación) estos se ponen a 37 grados con un agitador (200 rpm), hasta la mitad de la fase según la lectura del espectrofotómetro utilizando unas cubetas de cuarzo, como blanco se utiliza agua destilada y después se hace una lectura cada 24 horas, hasta que alcancé una absorbancia de 0,6 a una longitud de onda de 600 nm, esto queda en el espectro del visible, esto es para tener un análisis cuantitativo y cualitativo de las bacterias, es decir, se selecciona el caldo cuando se encuentra en su máximo crecimiento, ya que es el momento clave para la nebulización.

-Finalmente, el caldo se filtra con una bomba de vacío o por gravedad, en ambos procedimientos con malla de 120 µm para quitar trozos de micelio para obtener el líquido libre de residuos (caldo + bacterias).

c) Procedimiento para la selección de las cepas de trabajo y su posterior criopreservación en crioperlas

-Una vez alcanzamos 0,6 de absorbancia se hace una dilución seriada 1:100 ($10^{-2}$) en fase exponencial (se pueden hacer otras diluciones pero se ha demostrado que se obtienen suficientes bacterias resuspendidas en dilución 1:100) a continuación colocamos las crioperlas en crioviales de 2 ml, previamente tenemos que seguir los siguientes pasos:

1. Tomar una pipeta de vidrio estéril, pipetear asépticamente 1,8 mL de la dilución -2 del inóculo con las bacterias resuspendidas más el caldo y añadir 0,2 ml de glicerol (criopreservante). Esta solución se compone:
    - 0,2 ml de glicerol.
    - 1,8 ml de caldo TSB o TSEYB con bacterias resuspendidas (inóculo).

2. En total serán 2 ml de la solución que será vertida en una caja de petri vidrio o plástica de 9 cm de diámetro.

3. A continuación, vertemos las crioperlas, en el caso de caja de petri de vidrio con el movimiento de nuestra muñeca realizando oscilaciones será suficiente, en caso de caja de petri plástica se puede utilizar un asa plana estéril para que rueden las crioperlas.

4. Los viales con crioperlas de cepas de trabajo, cuando van a ser usados, se debe sacar las perlas necesarias y en el menor tiempo posible debe ser guardado, nuevamente, el vial en el congelador. Se utilizan crioviales de 2 mililitros con crioperlas, ya que estas aumentan la relación superficie/volumen y además

impide que se tenga que descongelar toda la muestra del crioviales y sólo se tomé lo necesario para inocular al medio que se dispone en el tanque.

5. Una vez a la semana hay que valorar la viabilidad y pureza estableciendo la dilución mínima reduciendo la necesidad de realizar las diluciones seriadas y reduciendo tiempos.

Para conservar las cepas de trabajo se requiere tener la información sobre la procedencia, # pase (en este caso sería quinto pase) y fecha de congelación.

Se utiliza un congelador de -80 grados Criopreservación con caldo TSY o TSEYB a la dilución 2 1:100 + 20% del volumen de glicerol. (4 días se requieren para bajar gradualmente la temperatura):

4 grados $\xrightarrow{24\text{ horas}}$ 20 grados $\xrightarrow{24\text{ horas}}$ 60 grados $\xrightarrow{24\text{ horas}}$ 80 grados.

Mediante este proceso conseguimos aumentar la vida útil de las cepas de trabajo, estas pueden ser viables de 5 a 10 años a -80°C. Si se mantiene a -20°C o menos duran máximo 1 año.

Se conservan en crioviales de 2 ml correctamente marcados con número del lote (PTODDMMAA) está información facilitará la procedencia. Vamos a desglosar la información implícita en este número de lote:

- P Proveedor de materia prima (micelio agotado orellana u otros residuos agrícolas).
- T Turno de trabajo (1-2-3 donde se inoculó el caldo con las esporas).
- Número del técnico/operario del proceso de criopreservación.
- DDMMAA Fecha de congelación que se aíslo la cepa de trabajo, procedencia, # pase (en este caso sería quinto pase) y fecha de congelación (determinar fecha de caducidad a -80°C en 10 años y a -20°C en 1 año).

<u>d) Proceso para la implementación de mezcla entre el caldo con la materia prima</u>

1. Se utiliza el caldo con las bacterias resuspendidas *Bacillus thuringiensis* var.israeliensis filtrado resultante, para realizar un proceso de nebulización (dividir en partes pequeñas), dicho caldo se agrega a un tanque (presurizado en acero Inoxidable de 5 galones con Boquilla atomizada con aire en bronce niquelado) para aplicar a través de tecnología spraying system con flujo/hora bajo, al micelio agotado de Orellana, el cual va a ser utilizado como medio de soporte de matriz estructural.

2. Operación de la boquilla manual:

Prueba de Caudal

Medición del Caudal de salida de la pieza a diferentes presiones de trabajo:

| Set-Up | 11005 SUE1/8A – Diámetro de orificio de 3,18 mm Ø | | |
|---|---|---|---|
| Presión línea de líquido | Presión línea de atomización | Caudal Líquido: CALDO TSB + YE (TSY EB) | Caudal Líquido: CALDO TSB |
| Unidades: bar | Unidades: bar | Unidades: ml/min | Unidades: ml/min |
| 0.2 | 0.5 | 60 | 55 |
| 0.3 | 0.5 | 100 | 95 |
| 0.7 | 0.85 | 210 | 180 |

**1.** Prueba de Cobertura

Medición del Ángulo:

Altura de referencia: 100 mm

| Set-Up | 11005 SUE1/8A – Diámetro de orificio de 3,18 mm Ø | | |
|---|---|---|---|
| Presión línea de líquido | Presión línea de atomización | Caudal Líquido: CALDO TSB + YE (TSY EB) | Caudal Líquido: CALDO TSB |
| Unidades: bar | Unidades: bar | Unidades: mm | Unidades: mm |
| 0.3 | 0.5 | 100 | 120 |

*En la parte final de la tabla están los procesos óptimos para cumplir con los intervalos entre la molienda según la capacidad instalada para la fabricación del producto final.*

• Los modelos 11005 combinan las características de las JN y las JCO ofreciendo una combinación de aguja de cierre y limpieza:

• Cuenta con una aguja de cierre manual que permite que se cierre el flujo del líquido a la boquilla. Ideal para aplicaciones de aspersión intermitentes donde el líquido se puede llegar a secar en el orificio entre usos.

• La aspersión del caldo a través de una cinta continua o puede ser por caída por gravedad en un codo PVC de 32" y ángulo de 45%. La ubicación del cabezal de la boquilla es ese punto es para evitar el impacto del chorro de manera perpendicular a la pared lo que produce que queden pegados la materia prima y puede llegar a taponar la tubería, además que habría

sobredosificación del caldo, no respetando la concentración garantizada de 2,8% esporas Bacillus thuringiensis.

Producto final

1. Una vez realizada la nebulización se deja secar en un espacio seco por 24 o más horas a una temperatura de 30 grados y humedad relativa menor del 50%. Se han realizado pruebas de vida útil durante 2 años, en los que se apreció que no ha crecido ningún tipo de hongo o levadura oportunista que dañe el producto. Se determinó que la microestructura de estos pellets es un material suficientemente poroso para albergar estos microorganismos, importante ya que mantienen una actividad de agua "Aw" mínima para impedir que puedan colonizar microorganismos oportunistas como mesófilos, mohos y levaduras.

2. Composición

Para calcular este valor nos basamos al peso del producto terminado con la correspondiente materia prima que se muele en un turno, eso equivale a 341 kg/ 2 horas (duración de la molienda) + incorporación del principio activo por lo tanto equivale a 344,2 kg. En el molino se introducirán ambas matrices en la proporción que aparece en la descripción inferior 60/40:

- Micelio agotado de orellana:
  - Densidad 382 kg/$m^3$
  - Volumen 0,53 $m^3$ ≈ 530 litros
  - Masa 205 kg ≈ 60%
- Tusa de maíz
  - Densidad 480 kg/$m^3$
  - Volumen 0,28 $m^3$ ≈ 280 litros
  - Masa 136 kg ≈ 40%

Una vez se ha obtenido el tamaño del gránulo deseado a través del tamiz se ubica en una cinta sin fin de 10 centímetros de anchura dónde a continuación se realizará la aspersión.

- Concentración ingrediente activo: 2,8% esporas *Bacillus thuringiensis var.israeliensis (*concentración garantizada).
  - 3253 gramos / 341 kg (materia prima total: micelio agotado de orellana + tusa de maíz)

A modo de resumen por cada kg de producto terminado tenemos:

1. 586 gramos micelio agotado de orellana
2. 386 gramos tusa de maíz
3. 28 gramos ingrediente activo esporas *Bacillus thuringiensis var.israeliensis*

La producción total semanal que se procesa para 15 turnos serían 5115 kg de producto terminado.

Finalmente se obtiene un producto granulado listo para empacar el cual se utiliza en unidad de estopa laminada con polietileno interno de dimensiones de 90 cm x 60 cm, debe asegurarse

una protección de la humedad, el uso del micelio agotado de orellana mantiene la actividad de agua al mínimo, esto evita el crecimiento de mohos y levadura que puedan dañar el producto, el peso neto de cada bulto serán 20 kg. Adicionalmente también se pueden obtener muestras comerciales del producto cuyo peso es 26,4 gr.

El producto es sostenible ecológicamente por lo cual reduce los residuos agrícolas brindando un valor agregado.

El producto granulado tiene dos tamaños dependiendo de la masa de agua donde se va a aplicar

-Aguas estancadas (Pocetas de enfriamiento, depósitos y reservorios de agua al aire libre, pozos sépticos, bidones de obra, bocas de riego) donde se implementa un molinillo universal con un diámetro tamiz de 1 mm

-Aguas a escorrentía por lluvia (Sumideros y sistemas de acueducto con leve movimiento) donde se utiliza un diámetro tamiz de 4 mm

En general el producto brinda los beneficios de ser eficaz en el control de larvas de mosquitos vectores, debido a que se puede esparcir fácilmente de forma manual y en pequeñas cantidades por unidad de superficie.

## 4. Reivindicaciones

1. Bioinsecticida-larvicida con base en un Bacillus thuringiencis var israelensis para el control de larvas o mosquitos vectores, caracterizado porque comprende preferiblemente:

- Micelio agotado de orellana:
  - Con una densidad de al menos 382 kg/m$^3$
  - Con un volumen de al menos 0,53 m$^3$ ≈ 530 litros
  - Con una Masa de al menos 205 kg ≈ 60%
- Tusa de maíz
  - Con una densidad de al menos 480 kg/m$^3$
  - Con un volumen de al menos 0,28 m$^3$ ≈ 280 litros
  - Con una masa de al menos 136 kg ≈ 40%

- Concentración ingrediente activo: preferiblemente 2,8% esporas *Bacillus thuringiensis var.israeliensis* .
  - Al menos 3253 gramos / 341 kg

2. Método de obtención de un Bioinsecticida-larvicida con base en un Bacillus thuringiencis var israelensis para el control de larvas o mosquitos vectores caracterizado porque comprende los siguientes pasos:

a) Realizar el tratamiento de la materia prima (micelio agotado del hongo Orellana Pleurotus spp): Este tratamiento comprende preferiblemente:

- Aplicar un proceso de molienda al micelio del hongo Orellana Pleurotus spp que implica verter la materia prima, preferiblemente en un molino de martillos, iniciando un movimiento de tornillo sinfín, ejecutando un tamiz de 3/8" 1.94 cm.

- Recolectar las partículas proyectadas por el molino en un silo.

- Verter la materia prima en una zaranda vibratoria y separar los residuos.

- Recolectar en garrafas de preferiblemente 50 galones con Capacidad máxima preferiblemente de 200 litros y 10,8 kg.

b) Elaborar el caldo:

- Mezclar la tusa ya previamente tratada para dejar el inóculo con las esporas durante en caldo triptona levadura (Medio liquido) a temperatura ambiente.

- Realizar una dilución seriada 1:100

- Colocar un frasco en una plancha térmica, preferiblemente durante 15 min, preferiblemente a 155°C y una velocidad preferida de 7,7 rpm.

- Ubicar un magneto con una longitud, preferiblemente, equivalente a la base del frasco, dejando 1 cm a ambos lados de la pared del frasco.

- Se pone a crecer en un tubo de ensayo de preferiblemente 20ml a 37 grados con un agitador (200 rpm), hasta la mitad de la fase según la lectura del espectrofotómetro utilizando unas cubetas de cuarzo, como blanco se utiliza agua destilada y después se hace una lectura cada 24 horas, hasta que alcancé una absorbancia de 0,6 a una longitud de onda de 600 nm, esto queda en el espectro del visible,

- Seleccionar el caldo cuando se encuentra en su máximo crecimiento.
- Filtrar el caldo con una bomba de vacío o malla.

c) Implementar la mezcla entre el caldo con la materia prima

- Realizar un proceso de nebulización utilizando el caldo con las cepas Bacillus thuringiensis del filtrado resultante.

- Agregar dicho caldo a un tanque preferiblemente presurizado en acero Inoxidable de 5 galones con Boquilla atomizada con aire en bronce niquelado.

- Aplicar el caldo a través de tecnología spraying system con flujo/hora bajo, a la tusa de maíz o al micelo de Orellana.

- Dejar secar en un espacio seco por preferiblemente 24 horas, o más, a una temperatura preferida de 30 grados y humedad relativa preferida de menor del 50%.

REIVINDICACIONES MODIFICADAS
recibidas por la oficina Internacional el 03 August 2021 (03.08.2021)

**[Reivindicación 1]** **[Modificada]** Bioinsecticida-larvicida con base en un Bacillus thuringiencis var israelensis para el control de larvas o mosquitos vectores, caracterizado porque comprende:

- Micelio agotado de pleurotus spp:
  - Con una densidad de al menos 382 kg/m3
  - Con un volumen de al menos 0,53 m3 ≈ 530 litros
  - Con una Masa de al menos 205 kg ≈ 60%
- Tusa de maíz
  - Con una densidad de al menos 480 kg/m3
  - Con un volumen de al menos 0,28 m3 ≈ 280 litros
  - Con una masa de al menos 136 kg ≈ 40%
- Concentración ingrediente activo: 2,8% esporas Bacillus thuringiensis var.israeliensis .
  - Al menos 3253 gramos / 341 kg

**[Reivindicación 2]** **[Modificada]** Método de obtención de un Bioinsecticida-larvicida con base en un Bacillus thuringiencis var israelensis para el control de larvas o mosquitos vectores caracterizado porque comprende los siguientes pasos:

a) Realizar el tratamiento de la materia prima (micelio agotado del hongo Pleurotus spp): Este tratamiento comprende:

- Aplicar un proceso de molienda al micelio del hongo Pleurotus spp que implica verter la materia prima, en un molino de martillos, iniciando un movimiento de tornillo sinfín, ejecutando un tamiz de 3/8" 1.94 cm.

- Recolectar las partículas proyectadas por el molino en un silo.
- Verter la materia prima en una zaranda vibratoria y separar los residuos.
- Recolectar en garrafas de 50 galones con Capacidad máxima de 200 litros y 10,8 kg.

b) Elaborar el caldo:

- Mezclar la tusa ya previamente tratada para dejar el inóculo con las esporas durante en caldo triptona levadura (Medio liquido) a temperatura ambiente.
- Realizar una dilución seriada 1:100
- Colocar un frasco en una plancha térmica, durante 15 minutos, a 155°C y una velocidad preferida de 7,7 rpm.
- Ubicar un magneto con una longitud, equivalente a la base del frasco, dejando 1 cm a ambos lados de la pared del frasco.
- Se pone a crecer en un tubo de ensayo de 20ml a 37 grados con un agitador (200 rpm), hasta la mitad de la fase según la lectura del espectrofotómetro utilizando unas cubetas de cuarzo, como blanco se utiliza agua destilada y después se hace una lectura cada 24 horas, hasta que alcance una absorbancia de 0,6 a una longitud de onda de 600 nm, esto queda en el espectro del visible,
- Seleccionar el caldo cuando se encuentra en su máximo crecimiento.
- Filtrar el caldo con una bomba de vacío o malla.

c) Implementar la mezcla entre el caldo con la materia prima

- Realizar un proceso de nebulización utilizando el caldo con las cepas Bacillus thuringiensis del filtrado resultante.
- Agregar dicho caldo a un tanque presurizado en acero Inoxidable de 5 galones con Boquilla atomizada con aire en bronce niquelado.
- Aplicar el caldo a través de tecnología spraying system con flujo/hora bajo, a la tusa de maíz o al micelo de pleurotus spp.
- Dejar secar en un espacio seco por al menos 24 horas, a una temperatura preferida de 30 grados y humedad relativa preferida de menor del 50%.

DECLARACION SEGUN EL ARTICULO 19 (1)

La presente solicitud de modificación de reivindicaciones se realiza con fundamento en los resultados del informe opinión escrita de la Administración encargada de la búsqueda internacional y con el fin de ser mas específicos en el alcance de protección del concepto inventivo, previo a la entrada en fases nacionales del PCT. Las modificaciones consisten en lo siguiente:

1. Se elimina la expresión "preferiblemente" de las reivindicaciones 1 y 2, con el fin de delimitar el concepto inventivo y ser más específicos con relación al estado del arte previo.
2. Se reemplaza la expresión "orellana pleurotus" utilizada en las reivindicaciones 1 y 2, por la expresión "Pleurotus spp.", en el entendido de que "Orellana" es uno de los nombres comunes del hongo ostra (Oyster mushroom en inglés) que corresponde a todas la especies del género "Pleurotus" asignado como "Pleurotus spp." y el cual Incluye, de manera no exclusiva, las siguientes especies: -Pleurotus citrinopileatus - Pleurotus eryngii -Pleurotus ostreatus - Pleurotus pulmonarious -Pleurotus salmoneo stramineus Agradecemos dar el trámite correspondiente a esta solicitud con el fin de continuar con el respectivo proceso del PCT.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CO2020/050001

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

***A01N63/23*** (2020.01)
***A01N25/12*** (2006.01)
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, TXT

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X<br>A | US 5283060 A (SHIEH TSUONG R) 01/02/1994,<br>claims | 1<br>2 |
| X | WO 02087342 A1 (ALICOM BIOLOG CONTROL LTD ET AL.) 07/11/2002,<br>claims | 1 |
| X | US 4563344 A (KOTZ MICHAEL E ET AL.) 07/01/1986,<br>claims | 1 |
| X | WO 02065835 A2 (VALENT BIOSCIENCES INC ET AL.) 29/08/2002,<br>claims | 1 |
| X | EP 1306008 A1 (NATURAL BIO TECHNOLOGY CO) 02/05/2003,<br>calims | 1 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 30/03/2021 | **(23/04/2021)** |
| Name and mailing address of the ISA/<br><br>OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS<br>Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)<br>Facsimile No.: 91 349 53 04 | Authorized officer<br>I. Rueda Molíns<br><br><br>Telephone No. 91 3493279 |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.
PCT/CO2020/050001

| Patent document cited in the search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---|---|
| US5283060 A | 01.02.1994 | KR840005800 A | 19.11.1984 |
| | | ZA837303 B | 29.05.1985 |
| | | NL8303284 A | 16.04.1984 |
| | | MY8700165 A | 31.12.1987 |
| | | JPS5982304 A | 12.05.1984 |
| | | IT1171705 B | 10.06.1987 |
| | | HU192200 B | 28.05.1987 |
| | | GB2127690 A | 18.04.1984 |
| | | GB2127690 B | 19.03.1986 |
| | | FR2533415 A1 | 30.03.1984 |
| | | FR2533415 B1 | 21.03.1986 |
| | | ES8506978 A1 | 16.08.1985 |
| | | DK442583 A | 30.03.1984 |
| | | DE3334198 A1 | 29.03.1984 |
| | | CS707683 A2 | 13.08.1987 |
| | | CH655639 B | 15.05.1986 |
| | | BR8305342 A | 08.05.1984 |
| | | BE897860 A | 29.03.1984 |
| | | AU1969283 A | 05.04.1984 |
| | | ATA343583 A | 15.10.1986 |
| US4563344 A | 07.01.1986 | CA1228806 A | 03.11.1987 |
| WO02087342 A1 | 07.11.2002 | US2004185079 A1 | 23.09.2004 |
| | | CA2445786 A1 | 07.11.2002 |
| WO02065835 A2 | 29.08.2002 | KR20030091989 A | 03.12.2003 |
| | | KR100858645B B1 | 17.09.2008 |
| | | US2011229543 A1 | 22.09.2011 |
| | | US8454983 B2 | 04.06.2013 |
| | | PT1367898E E | 31.01.2007 |
| | | ZA200306126 B | 14.07.2004 |
| | | US2005244394 A1 | 03.11.2005 |
| | | US7989180 B2 | 02.08.2011 |
| | | US2003064060 A1 | 03.04.2003 |
| | | PL362523 A1 | 02.11.2004 |
| | | PL206597B B1 | 31.08.2010 |
| | | MXPA03007311 A | 14.02.2005 |
| | | HU0303142 A2 | 29.12.2003 |
| | | HU0303142 A3 | 28.01.2009 |
| | | HK1062625 A1 | 19.11.2004 |
| | | ES2269668T T3 | 01.04.2007 |
| | | EP1367898 A2 | 10.12.2003 |
| | | EP1367898 A4 | 31.03.2004 |
| | | DK1367898T T3 | 27.12.2006 |
| | | DE60213953T T2 | 13.09.2007 |
| | | CN1491080 A | 21.04.2004 |
| | | CN100521945C C | 05.08.2009 |
| | | CA2438230 A1 | 29.08.2002 |
| | | CA2438230 C | 06.09.2011 |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.
PCT/CO2020/050001

| Patent document cited in the search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---|---|
| | | BR0207697 A | 06.04.2004 |
| | | BR0207697 B1 | 04.02.2014 |
| | | AU2002250062B B2 | 10.11.2005 |
| | | AT336172T T | 15.09.2006 |
| EP1306008 A1 | 02.05.2003 | NONE | |

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/CO2020/050001

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD
***A01N63/23*** (2020.01)
***A01N25/12*** (2006.01)
De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
A01N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)
EPODOC, INVENES, WPI, TXT

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

| Categoría* | Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes | Relevante para las reivindicaciones nº |
|---|---|---|
| X<br>A | US 5283060 A (SHIEH TSUONG R) 01/02/1994,<br>reivindicaciones | 1<br>2 |
| X | WO 02087342 A1 (ALICOM BIOLOG CONTROL LTD ET AL.) 07/11/2002,<br>reivindicaciones | 1 |
| X | US 4563344 A (KOTZ MICHAEL E ET AL.) 07/01/1986,<br>reivindicaciones | 1 |
| X | WO 02065835 A2 (VALENT BIOSCIENCES INC ET AL.) 29/08/2002,<br>reivindicaciones | 1 |
| X | EP 1306008 A1 (NATURAL BIO TECHNOLOGY CO) 02/05/2003,<br>reivindicaciones | 1 |

☐ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.
"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

| Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. | Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional. |
|---|---|
| 30/03/2021 | **23 de abril de 2021 (23/04/2021)** |
| Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional<br>OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS<br>Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)<br>Nº de fax: 91 349 53 04 | Funcionario autorizado<br>I. Rueda Molíns<br><br>Nº de teléfono 91 3493279 |

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/CO2020/050001

| Documento de patente citado en el informe de búsqueda | Fecha de Publicación | Miembro(s) de la familia de patentes | Fecha de Publicación |
|---|---|---|---|
| US5283060 A | 01.02.1994 | KR840005800 A | 19.11.1984 |
| | | ZA837303 B | 29.05.1985 |
| | | NL8303284 A | 16.04.1984 |
| | | MY8700165 A | 31.12.1987 |
| | | JPS5982304 A | 12.05.1984 |
| | | IT1171705 B | 10.06.1987 |
| | | HU192200 B | 28.05.1987 |
| | | GB2127690 A | 18.04.1984 |
| | | GB2127690 B | 19.03.1986 |
| | | FR2533415 A1 | 30.03.1984 |
| | | FR2533415 B1 | 21.03.1986 |
| | | ES8506978 A1 | 16.08.1985 |
| | | DK442583 A | 30.03.1984 |
| | | DE3334198 A1 | 29.03.1984 |
| | | CS707683 A2 | 13.08.1987 |
| | | CH655639 B | 15.05.1986 |
| | | BR8305342 A | 08.05.1984 |
| | | BE897860 A | 29.03.1984 |
| | | AU1969283 A | 05.04.1984 |
| | | ATA343583 A | 15.10.1986 |
| US4563344 A | 07.01.1986 | CA1228806 A | 03.11.1987 |
| WO02087342 A1 | 07.11.2002 | US2004185079 A1 | 23.09.2004 |
| | | CA2445786 A1 | 07.11.2002 |
| WO02065835 A2 | 29.08.2002 | KR20030091989 A | 03.12.2003 |
| | | KR100858645B B1 | 17.09.2008 |
| | | US2011229543 A1 | 22.09.2011 |
| | | US8454983 B2 | 04.06.2013 |
| | | PT1367898E E | 31.01.2007 |
| | | ZA200306126 B | 14.07.2004 |
| | | US2005244394 A1 | 03.11.2005 |
| | | US7989180 B2 | 02.08.2011 |
| | | US2003064060 A1 | 03.04.2003 |
| | | PL362523 A1 | 02.11.2004 |
| | | PL206597B B1 | 31.08.2010 |
| | | MXPA03007311 A | 14.02.2005 |
| | | HU0303142 A2 | 29.12.2003 |
| | | HU0303142 A3 | 28.01.2009 |
| | | HK1062625 A1 | 19.11.2004 |
| | | ES2269668T T3 | 01.04.2007 |
| | | EP1367898 A2 | 10.12.2003 |
| | | EP1367898 A4 | 31.03.2004 |
| | | DK1367898T T3 | 27.12.2006 |
| | | DE60213953T T2 | 13.09.2007 |
| | | CN1491080 A | 21.04.2004 |
| | | CN100521945C C | 05.08.2009 |
| | | CA2438230 A1 | 29.08.2002 |
| | | CA2438230 C | 06.09.2011 |

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/CO2020/050001

| Documento de patente citado en el informe de búsqueda | Fecha de Publicación | Miembro(s) de la familia de patentes | Fecha de Publicación |
|---|---|---|---|
| | | BR0207697 A | 06.04.2004 |
| | | BR0207697 B1 | 04.02.2014 |
| | | AU2002250062B B2 | 10.11.2005 |
| | | AT336172T T | 15.09.2006 |
| EP1306008 A1 | 02.05.2003 | NINGUNO | |